

## DIFERENCIAS EN LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LOS HÍBRIDOS TRIPLOIDES DE CÍTRICOS OBTENIDOS A PARTIR DE HIBRIDACIONES SEXUALES 2x X 2x y 4x X 2x

**Aleza P.<sup>1</sup>, Cuenca J.<sup>1</sup>, Juárez J.<sup>1</sup>, Ollitrault P.<sup>1-2\*</sup>, Navarro L.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, (IVIA). Ctra. Moncada a Náquera km 4.5, Apdo. Oficial 46113, Moncada, Valencia.

<sup>2</sup> CIRAD, UMR AGAP, Avenue Agropolis - TA A-75/02 F734398, Montpellier, Francia.

\* Autores con la misma contribución en el trabajo.

**Palabras clave:** mandarino, gametos no reducidos, tetraploide, disómico, tetrasómico

### INTRODUCCIÓN

La obtención de híbridos triploides es la estrategia principal para la producción de mandarinas sin semillas ya que los consumidores no aceptan la presencia de éstas en los frutos. En los cítricos se pueden obtener híbridos triploides a partir de hibridaciones 2x X 2x como consecuencia de la formación de gametos femeninos no reducidos y mediante hibridaciones interploides (2x X 4x y 4x X 2x). Muchos de los parentales 4x utilizados son dobles diploides (DD).

La estructura genética de los gametos diploides y particularmente la restitución de la heterocigosidad materna (RHM) para cada *locus*, depende de los procesos meióticos que los originan. La restitución de la segunda división meiótica (SDR) es el mecanismo implicado en la formación de gametos femeninos no reducidos en las clementinas y en mandarino 'Fortune' (Cuenca et al., 2011). Con SDR, la RHM varía dependiendo de la posición del *locus* considerado y del número de entrecruzamientos originados entre el *locus* considerado y el centrómero. La RHM varía entre 0%, para los *loci* muy próximos al centrómero y un valor máximo que depende del nivel de interferencia cromosómica. Los datos experimentales obtenidos en cítricos indican que el modelo de interferencia parcial ( $Cx(Co)^4$ ) es el que presenta un mejor ajuste. Para los parentales DD, la RHM depende del grado de asociación preferencial entre los cromosomas y por lo tanto de la relación entre la segregación a nivel disómico (100%) y/o tetrasómico (55,5-66,6%).

El objetivo de este trabajo es analizar la variabilidad genotípica de los híbridos triploides obtenidos mediante hibridaciones sexuales 2x X 2x y 4x X 2x y su implicación en el programa de mejora genética de híbridos triploides de cítricos que estamos desarrollando en el IVIA.

### MATERIAL Y MÉTODOS

92 híbridos triploides procedentes de hibridaciones 2x X 2x (Clementina x mandarino 'Nadorcott') y 92 obtenidos de hibridaciones 4x X 2x (Clementina 4x x zamboa 'Pink') fueron analizados con 19 marcadores SSR y 41 marcadores SNP distribuidos en los nueve grupos de ligamiento del mapa genético de clementina. La estructura genética de los gametos femeninos diploides fue inferida a partir de la estimación de las dosis alélicas de los híbridos triploides. De aquí en adelante denominaremos gametos 2n a los gametos femeninos no reducidos producidos por la clementina diploide y gametos 2x a los gametos diploides producidos por la clementina tetraploide.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Variaciones inter *loci* dentro y entre grupos de ligamientos (GL)

**Gametos 2n:** La RHM osciló entre 0 y el 80% a lo largo de cada GL y según la distancia al centrómero del *locus* considerado. Los máximos valores de RHM obtenidos oscilaron entre el 70 y el 80%. Estos resultados están en consonancia con el modelo de interferencia parcial.

**Gametos 2x:** La RHM se mantuvo relativamente constante dentro de cada GL (60%) sin embargo en los GL 4, 5 y 8 se observó una disminución consistente de la RHM en los marcadores teloméricos respecto a los centroméricos, probablemente debido a la doble reducción. Además en los GL 4 y 6 se observaron valores de RHM significativamente superiores al 66% (77 y 73% respectivamente), lo que sugiere la formación de asociaciones preferenciales parciales entre los cromosomas o segregaciones intermedias.

**Diferencias genéticas entre las poblaciones de gametos 2n y 2x**

**A nivel de locus:** En promedio y para cada GL los gametos 2x presentaron valores de RHM más elevados que los gametos 2n. A nivel global, la RHM de los gametos 2n ( $0.427 \pm 0.280$ ) es aproximadamente 2/3 de la obtenida por los gametos 2x ( $0.650 \pm 0.090$ ). Sin embargo, se observó una mayor variación en los valores de RHM entre los *loci* para los gametos 2n (0-0.816) que para los gametos 2x (0.505-0.857).

**A nivel de gameto:** En promedio, los gametos 2n ( $0.429 \pm 0.069$ ) presentaron una RHM significativamente menor que los gametos 2x ( $0.649 \pm 0.120$ ). Todos los gametos diploides analizados obtenidos en ambas poblaciones pudieron ser diferenciados con los marcadores utilizados. Sin embargo, la distancia genética media de los gametos 2x (0.288) fue significativamente menor que la obtenida para los gametos 2n (0.368).

El análisis genético de los híbridos triploides obtenidos a partir de hibridaciones sexuales 2x X 2x y 4x X 2x permite concluir que las hibridaciones 4x X 2x son más adecuadas que las hibridaciones 2x X 2x para la obtención de híbridos con características similares al parental diploide del cual se obtuvo el doble diploide. Por el contrario, las hibridaciones 2x X 2x permiten producir híbridos más heterogéneos lo que permite desarrollar productos innovadores desde el punto de vista de la segmentación del mercado. El análisis genético realizado con todos los marcadores SSR y SNP permitió determinar que la diversidad genotípica de ambas poblaciones son complementarias permitiendo obtener un mayor nivel de variabilidad genotípica.

Cuando se pretende realizar la mejora genética de caracteres con un control genético simple, la determinación de la distancia genética de los genes dominantes al centrómero permitirá estimar el valor relativo de los dos tipos de hibridación para la obtención de híbridos triploides.

**REFERENCIAS**

Cuenca, J., Froelicher, Y., Aleza, P., Juárez, J., Navarro, L., Ollitrault, P. 2011. Multilocus half tetrad analysis and centromere mapping in Citrus; evidences of SDR mechanism for 2n megagametophyte production and partial chromosome interference in mandarin cv Fortune. *Heredity*, 107 (5): 462-470.